

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ГОССИПОЛА В ОПЫТАХ НА ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЯХ

Е. М. Вермель и С. А. Кругляк

Из Всесоюзного научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений, ВИЛАР (дир.— П. Т. Кондратенко)

Поступила в редакцию 29/III 1963 г.

Мировой опыт показал, что поиски противоопухолевых препаратов, ведущиеся эмпирически, очень трудоемки, и малоэффективны. Следует полагать, что успех будет более значительным, если в основу поисков будут положены теоретически обоснованные предпосылки. В своих поисках мы обратились, исходя из токсигенного принципа, к ортодифенолам.

Известно, что дифенолы с ОН-группами в ортоположении легко дают хиноны под влиянием тирозиназы, которая содержится, в частности, в очень больших количествах в клетках меланом. Известно также, что хиноны отличаются большей токсичностью, чем соответственные фенолы. Таким образом, нетоксичный или слабо токсичный полифенол, попав в клетку меланомы, будет ею превращен в ядовитое вещество, которое, как можно надеяться, погубит ее.

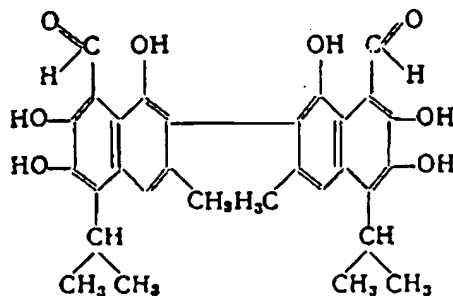
Весьма вероятно, что токсогенный механизм действия полифенолов на опухолевую клетку является не единственным. Нам представляется обоснованным также принцип, предложенный Н. М. Эмануэлем [11], который обратился к фенолам, исходя из их способности ингибировать свободнорадикальные реакции. При этом подавляются окислительно-восстановительные процессы, играющие очень большую роль в обмене опухолевых клеток. Рядом работ лаборатории Н. М. Эмануэля [9, 10] показано, что некоторые фенолы (пропилгаллат, инол, амбунол), действительно, тормозят развитие перевиваемых лейкозов.

Противоопухолевая активность фенолов подтверждена в ряде экспериментов Лефевра, Баранже и др. [4, 13, 17]; эти авторы, в частности, выявили значительную активность геранил-пирокатехина, являющегося ортодифенолом.

Таким образом, фенолы привлекают к себе внимание многих исследователей, но подходы к их применению различны.

Исходя из изложенного выше положения относительно токсигенного принципа, мы в своем выборе ортодифенола остановились на пигменте из хлопчатника, известном под названием госсипол (Gossipium hirsutum). Это вещество было нам предложено, в ответ на нашу просьбу найти природный ортодифенол, проф. А. С. Садыковым.

Госсипол впервые был выделен еще в 1899 г. Мархлевским [18]. Его эмпирическая формула — $C_{30}H_{30}O_8$. Структурная формула госсипола установлена в 1938 г. Адамсом и сотр. [12]. Она такова:



Госсипол представляет собою динафтил с 6 оксигруппами, из них две пары (в положениях 6—7 и 6'—7') находятся в ортоположении друг к другу. Лабильность соединения определяется также наличием двух альдегидных групп в положениях 8 и 8'. Госсипол при длительном стоянии на воздухе, в особенности в растворе, легко окисляется. Он представляет собою желтый порошок, не растворимый в воде и хорошо растворимый в маслах и органических растворителях. Его температура плавления 184° (при перекристаллизации из хлороформа).

Госсиполу посвящена большая литература. В обзоре В. П. Ржехина и А. Б. Беловой [7] приведена библиография в 219 названий. В основном она посвящена химии этого соединения и технологии освобождения от него хлопкового масла, поскольку госсипол ухудшает его качество.

Для своих исследований мы получали госсипол, выделенный из коры корней хлопчатника (Институт химии полимеров АН УзССР, Ташкент; проф. А. С. Садыков и А. И. Исмаилов), а также из масла семян (Всесоюзный научно-исследовательский институт жиров, Ленинград; проф. В. П. Ржехин и А. Б. Белова).

Токсические свойства госсипола изучали преимущественно ветеринарные врачи, поскольку жмыхи семян хлопчатника идут на корм животным и содержат довольно значительные количества этого вещества.

Токсичность госсипола исследуется уже много лет [14, 16]. Наиболее подробное исследование принадлежит И. Е. Мозгову [5, 6]. Он показал, что введение внутрь собакам в течение 45 дней 1 мг/кг госсипола не вызывает никаких симптомов отравления. Доза 3—5 мг/кг ежедневно внутрь дает признаки отравления через 20—30 дней. При скормливании 10 мг/кг через 21—38 дней гибнет ~50% собак. Показано, что отравление крупного рогатого скота при переводе на кормление исключительно жмыхами семян хлопчатника наступало только через 1 месяц [1]. Установлено также, что госсипол кумулируется организмом [3].

Большое число работ посвящено изучению токсичности госсипола для поросят, кроликов, кур и т. д. Лабораторные животные к госсиполу довольно устойчивы. Так, по данным Игла [15], DL_{50} госсипола для крыс равна 2250 мг/кг, по данным Толлет и Холли [19], длительное введение через рот морским свинкам 150 мг/кг в день вызывает лишь некоторую задержку роста животных.

В нашем институте (ВИЛАР) токсичность госсипола изучала Е. А. Трутнева [18]. Она нашла, что при однократном введении 65—125 мг/кг препарата внутрь мышам весом 18 г никаких изменений в поведении животных не наблюдается. Доза 250 мг/кг ведет к гибели 2 из 10 мышей. В хроническом опыте введение 5—10 мг/кг в сутки в течение 10 дней гибели мышей не вызывает; от дозы выше 20—25 мг/кг ежедневно погибают отдельные животные. Токсичность госсипола для крыс оказалась такой же, как и для мышей.

Клинические наблюдения из большого числа больных опухолями показали, что доза 40—60 мг в день переносится людьми без побочных явлений в течение 1½—2 месяцев. Препарат несомненно кумулирует и обычно через 7—8 недель у больных появляется тошнота. В этих случаях достаточно сделать перерыв в приеме госсипола на 7—10 дней, после чего лечение можно продолжать.

Результаты исследования

Контактные опыты. Непосредственное влияние госсипола на опухолевые клетки мы определяли, используя модифицированный нами метод Шрека [2]. Опыты ставили на клетках асцитной опухоли Эрлиха мышей и саркомы Йосиды крыс. Активность определяли, подсчитывая процент погибших клеток после инкубации в течение 3 часов при 37° смеси равных объемов растворов госсипола и асцитической жидкости.

Предварительные опыты были поставлены со взвесью госсипола в физиологическом растворе. Так как госсипол в воде растворим лишь в ничтожной концентрации, то соответствующую его навеску для максимального насыщения помещали в физиологический раствор за 18 часов до начала опытов. При этих условиях за 3 часа погибает около 50% клеток опухоли Эрлиха и 100% клеток саркомы Йосиды. Гибель клеток в контроле (физиологический раствор) равнялась соответственно 1 и 8%.

Основные опыты проведены с госсиполом, растворенным в твине-80. Из основного 2%-ного раствора госсипола в твине готовили ряд более слабых концентраций путем разведения физиологическим раствором. Титрование растворов госсипола на твине и самого твина показало наличие активности госсипола в разведении 1:10 000 на саркоме Йосиды. Так, под влиянием госсипола в этом разведении погибает 70% клеток, а при воздействии твина в соответственном разбавлении (1:200) только 5%.

Опыты на животных. Изучение противоопухолевой активности госсипола проводили на 11 штаммах опухолей — 5 асцитных и 6 солидных.

Асцитные опухоли прививали животным путем внутрибрюшинного введения асцитической жидкости (3—4 млн. опухолевых клеток); солидные опухоли прививали под кожу взвесью опухолевых клеток. В опыт брали мышей весом 18—22 г, крыс — 90—120 г.

Госсипол вводили животным в виде раствора в подсолнечном или сливочном масле, а также в виде растворов на твине-80 (при парентеральном введении). Параллельно в качестве контроля изучали активность растворителей.

Лечение животных, привитых асцитным штаммом опухолей и карцино-саркомой Уокера, начинали через сутки после прививки и далее препарат вводили ежедневно в течение 5—7 дней. Животным, привитым пятью остальными солидными типами опухолей, препараты начинали вводить с 5—10-го дня, когда опухоль уже организовалась; курс лечения длился 10—20 дней. Животных убивали через сутки после последнего введения препарата. Активность препарата определяли при асцитных опухолях на основании количества накопившейся асцитической жидкости, при солидных опухолях — по весу опухоли. Во всех случаях устанавливали по обычной формуле процент торможения роста опухоли.

В 1-й серии опытов госсипол был изучен в виде масляных растворов, которые вводили перорально. Проверяли ряд доз: максимально переносимую — 100 мг/кг, вызывающую потерю веса животных, и меньшие дозы — 50 и 25 мг/кг. Активность обнаружена на двух штаммах (В и Г) асцитного рака Эрлиха. На штамме В доза 100 мг/кг вызвала торможение накопления асцитической жидкости на 50—90%, доза 50 мг/кг на 31—52%, доза 25 мг/кг на 34—40%. На штамме Г дозы 100 и 50 мг/кг тормозили соответственно рост опухоли на 40—90% и 41—50%; доза 25 мг/кг была не активна (рис. 1).

При введении масляного раствора госсипола под кожу мышам, привитым раком молочной железы мышей линии СЗНА, торможение роста опухоли достигало 37%. На других 9 штаммах опухолей при пероральном введении масляные растворы госсипола активности не обнаружили. Растворы масла, проверенные параллельно в качестве контроля, влияния на рост опухолей не оказали.

Во 2-й серии опытов изучали действие растворов госсипола на твине-80 при трех методах введения.

При пероральном введении мышам госсипол, растворенный в твине, оказался менее активным, чем его масляный раствор. Так, он обнаружил некоторое действие лишь в максимально переносимых дозах (100 мг/кг). На штамме В рака Эрлиха торможение не превышало 50%, а на штамме Г — 36%. На другие 9 штаммов в дозах 50 и 25 мг/кг при введении внутрь препарат действия не оказал. Твин-80 в параллельных опытах при пероральном введении эффекта не дал.

Отчетливые данные относительно активности растворов госсипола

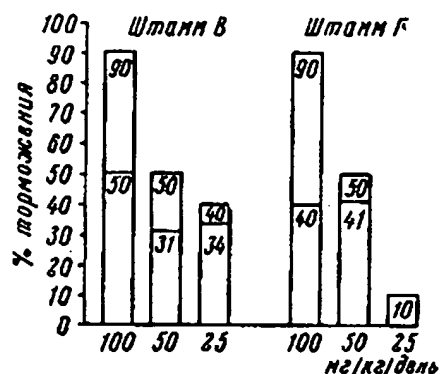


Рис. 1. Изучение действия раствора госсипола в масле на двух асцитных штаммах рака Эрлиха.

Верхняя цифра столбца — максимальный эффект, нижняя — минимальный. (Пероральное введение).

на твине-80 получены при его введении животным под кожу. Основные результаты суммированы на рис. 2, из которого видно, что госсипол обладает активностью на мышах при асцитном раке Эрлиха (штамм В), саркоме-37 и саркоме-180 не только в максимально переносимых дозах, но и в дозах, не вызывающих угнетения мышей. Так, на штамме В рака Эрлиха госсипол в дозе 100 мг/кг полностью задерживает развитие асцита, а дозы 50 и 25 мг/кг тормозят рост опухоли на 62 и 43% соответственно. На саркомах-37 и 180 доза 50 мг/кг вызывает торможение на 100 и 59%, а доза 25 мг/кг на 44 и 42% соответственно.

Госсипол в дозе 25 мг/кг вызвал в опытах на асцитной форме рака Эрлиха 56% торможения, на раке молочной железы мышей линии СЗНА — 44%, на карцино-саркоме Уокера — 54%, на асцитной гепатоме крыс (доза 50 мг/кг) — 66%. Доза госсипола 10 мг/кг на всех изученных штаммах эффекта не дала.

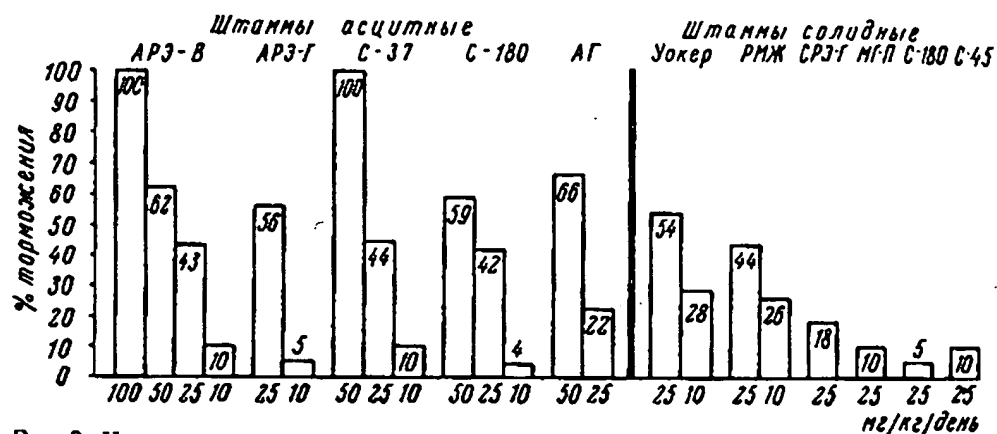


Рис. 2. Изучение действия раствора госсипола в твине-80 на 11 штаммах опухолей (подкожное введение).

При солидной форме рака Эрлиха, солидной форме саркомы-180 и меланоме Гардинг-Пасси действия госсипола не отмечено.

Введенный подкожно с целью контроля твин-80 ни в одном случае в соответственных дозах активности не обнаружил.

Госсипол, растворенный в твине, был также изучен при внутрибрюшинном его введении. Однако оказалось, что параллельно проверенный раствор чистого твина-80 оказывал аналогичное действие на тех же 5 штаммах опухолей асцитного типа, при которых был активен раствор госсипола.

При солидных формах перевиваемых опухолей твин-80, введенный внутрибрюшинно был неактивен, а госсипол на карцино-саркоме Уокера и саркоме-180 в дозе 5 мг/кг тормозил рост опухоли приблизительно на 70%.

Мы изучали также действие раствора госсипола в едком натрии с последующей его нейтрализацией уксусной кислотой. Однако эти растворы имели pH все же равный 11. Положительных результатов их введение не дало. Не получено также эффекта при испытании антрацилат госсипола.

Выводы

1. Противоопухолевую активность госсипола (пигмент из хлопчатника) изучали на 6 асцитных и 5 солидных штаммах опухолей.
2. Растворы госсипола в масле активны при пероральном введении в отношении асцитного рака Эрлиха.
3. Растворы госсипола в твине-80 активны при подкожном введении для асцитного рака Эрлиха, штамм В, саркомы-37 и саркомы-180:

слабо действовали они на асцитный рак Эрлиха, штамм Г, асцитную гепатому крыс, карцино-саркому Уокера и рак молочной железы мышшей линии СЗНА.

4. Госсипол обладает противоопухолевой активностью в большинстве случаев в сравнительно высоких дозах. Действие его выражается показателем торможения в пределах 40—60%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Л. А., Аверьянова К. Известия Ереван. мед. ин-та, 1946, 4, 5, 45.
2. Вермель Е. М. и Сыркина-Кругляк С. А. Вopr. онкол., 1961, 7, 8, 73—82.
3. Журавлев В. В. Ветеринария, 1948, 25, 11, 41—42.
4. Лефевр Р. (и др.). Тр. VIII Международного противоракового конгресса. 1963, 6.
5. Мозгов И. Е. Сб. работ Военно-вет. акад. 1943, 4, 196.
6. Мозгов И. Е. Ветеринария, 1946, 23, 2—3, 38—42.
7. Ржехин В. П., Белова А. Б. Новые способы выведения госсипола из хлопковых семян, масла и шрота. Обзор. Цинтилищепром, М., 1961.
8. Трутнева Е. А. Отчет ВИЛАР за 1959 г.
9. Эмануэль Н. М., Липчина Л. П. Докл. АН СССР, 1958, 121, 1, 141—144.
10. Эмануэль Н. М., Липатова Т. Э. Докл. АН СССР, 1960, 130, 1, 221—222.
11. Эмануэль Н. М. В сб.: Пути синтеза и изыскания противоопухолевых препаратов. М., Медгиз, 1962, 22—37.
12. Adams [a. o.] J. Am. Chem. Soc., 1938, 60, 9, 2180, 2193, 2967, 2970.
13. Baranger R., Filor M. K. C. r. Acad. Sc., 1954, 2037—2039.
14. Clark A. Oil Fat. Industries., 1928, 5, 237, 273.
15. Eagle E. J. Am. Oil Chemists' Soc., 1960, 37, 40—43.
16. Gallup C. J. Biol. Chem., 1931, 93, 281.
17. Lefevre R., Baranger R. Acta Unio inter. contra cancrum, 1958, 16, 3—4, 887.
18. Marchlewsky L. J. Pract. Chem., 1899, 60, 84.
19. Tollett J. T. [a. o.] J. Animal Sc., 1957, 16, 1081.

ANTITUMOUR ACTIVITY OF GOSSYPOL IN EXPERIMENTS ON TRANSPLANTED TUMOURS

E. M. Vermel and S. A. Kruglak

All-Union Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow.

Gossypol was chosen for our experiments as an antitumours preparation as belonging to the group of natural orthophenols of little toxicity which are usually transformed by thyrozinase into more toxic substances (toxigenic principle).

In contact experiments gossypol proved to be very active especially on Yoshida sarcoma cells. In experiments on 11 strains of transplanted tumours, gossypol showed considerable activity in respect to ascites tumours when administered orally or subdermally in doses of 50—100 mg/kg (5—6 times per day). It inhibited the accumulation of ascites in animals with Ehrlich carcinoma, sarcoma 37, sarcoma 180 (mice) and hepatoma (rats) in 60—100% of the cases. In experiments with solid tumours gossypol was less active and inhibited the Walker carcinosarcoma growth in 50—55% of rats and mammary carcinoma in 40—45% of mice of C3HA strain. Gossypol was ineffective in cases of sarcoma 45 growth in rats, Harding—Passey melanoma, solid Ehrlich carcinoma and sarcoma 180 (Crocker) in mice.

Адреса авторов: Е. М. Вермель — Москва, В-261, ул. Панферова, 8, кв. 40; С. А. Кругляк — Москва, Сушеvский вал, 14/42, корп. 2, кв. 36.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СОЮЗА ССР

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

(VOPROSY ONCOLOGII)

Т О М IX

12

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
ЛЕНИНГРАД
1963

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

- Ларионов Л. Ф. и Чудакова М. А. Применение сарколизина с колхаминном при раке пищевода 3
- Нечаева И. Д. Материалы о применении тиюТЭФа в комплексном лечении больных злокачественными опухолями яичников 8
- Берман Н. А. и Левкович Ю. И. Фотосистоскопия при опухолях мочевого пузыря 18
- Штраус З. Э. О показателях летальности при хронических заболеваниях и злокачественных опухолях 22
- Кротова Л. И. Клинико-морфологические параллели при развитии предраковых состояний и рака шейки матки женщины 26
- Вермель Е. М. и Кругляк С. А. Противоопухолевая активность госсипола в опытах на пересаживаемых опухолях 39
- Спасская И. Г., Платонова Г. Н., Солопаева И. М., Семенов Л. Ф., Зейтунян, К. А., Ларионов Л. Ф. Ослабление токсичности допан с помощью аминоэтилэотнурия (АЭТ) в опытах на обезьянах 44
- Фичиджан Б. С. и Погосянц Е. Е. Хромосомная характеристика трех пересаживаемых лейкозов крыс 47
- Акимова Р. Н. Штамм пересаживаемой карциномы почки крысы (Штамм РА) 51
- Милдеова Е. Разрастания глиозной ткани в эндометрии 55
- Франкфурт О. С. О природе различия в окраске амниачным серебром ядер нормальных и раковых клеток 61

Краткие сообщения

- Анброх Я. М. и Анброх Г. Б. Рак фаллопиевых труб (5 наблюдений) 70
- Гуглин Э. Р. и Митин А. А. Субтотальная резекция желудка по поводу рака при полной атрио-вентрикулярной блокаде 75

CONTENTS

Original Articles

- Larionov L. F. and Chudakova M. A. The Use of Sarcolysin with Colchamin in Oesophagus Carcinoma 3
- Nechaeva I. D. On the Use of ThioTEPA in combined Treatment of Malignant Ovary Tumours 8
- Berman N. A. and Levkovich U. I. Photocystoscopy in Bladder Tumours 18
- Straus Z. E. On Mortality Rate Indicators in Chronic Diseases and Malignant Tumours 22
- Krotova L. I. Clinical and Morphological Parallels during the Development of Precancer and Cervix Uteri Carcinoma 26
- Vermel' E. M. and Kruglyak S. A. Antitumour Activity of Gossypol in Experiments on Transplanted Tumours 39
- Spasskaya I. G., Platonova G. N., Solopaeva T. M., Semenov L. F., Zeitunian K. A. and Larionov L. F. Dopan Toxicity Weakened with Aminoethylisothiyuronium (AETH) (Experiments on Monkeys) 44
- Fichijian B. S. and Pogosi-anz H. E. The Chromosome Characteristics of the Three Transplantable Rat Leukemias 47
- Akimova R. N. A Strain of the Transplantable Carcinoma of Rat Kidney (Strain RA) 51
- Mildeova E. Glial Tissue Proliferation in Endometrium 55
- Frankfurt O. S. On the Difference in the Dyeing of Nuclei of Normal and Cancerous Cells with Ammoniacal Silver 61

Short Notes

- Anbroch I. M. and Anbroch G. B. Fallopian Tubes Carcinoma (5 Cases) 70
- Guglin E. R. and Mitin A. A. Subtotal Stomach Resection for Carcinoma in Complete Atrioventricular Blocking 75